

LAW OFFICES
SUGHRUE, MION, ZINN, MACPEAK & SEAS, PLLC
2100 PENNSYLVANIA AVENUE, N.W.
WASHINGTON, DC 20037-3213
TELEPHONE (202) 293-7060
FACSIMILE (202) 293-7860
www.sughrue.com



December 29, 2000

BOX PATENT APPLICATION
Assistant Commissioner for Patents
Washington, D.C. 20231

Re: Application of Katsuhiko TOMITA
MOLECULAR RECOGNITION TYPE CHEMICAL CCD
Our Ref. Q62299

#3
C.A.
7/20/01

Dear Sir:

Attached hereto is the application identified above including Eighteen (18) sheets of the specification, including the claims and abstract, eight (8) sheets of drawings, executed Assignment and PTO 1595 form, and executed Declaration and Power of Attorney.

The Government filing fee is calculated as follows:

Total claims	<u>6</u> - 20	=	<u> </u>	x	\$18.00	=	<u> </u>	\$0.00
Independent claims	<u>1</u> - 3	=	<u> </u>	x	\$80.00	=	<u> </u>	\$0.00
Base Fee								\$710.00
Multiple Dependent Claim Fee								\$270.00
TOTAL FILING FEE								\$980.00
Recordation of Assignment								\$40.00
TOTAL FEE								\$1020.00

Checks for the statutory filing fee of \$980.00 and Assignment recordation fee of \$40.00 are attached. You are also directed and authorized to charge or credit any difference or overpayment to Deposit Account No. 19-4880. The Commissioner is hereby authorized to charge any fees under 37 C.F.R. §§ 1.16 and 1.17 and any petitions for extension of time under 37 C.F.R. § 1.136 which may be required during the entire pendency of the application to Deposit Account No. 19-4880. A duplicate copy of this transmittal letter is attached.

Priority is claimed from February 29, 2000 based on JP Application No. 2000-053678. The priority document is enclosed herewith.

Respectfully submitted,
SUGHRUE, MION, ZINN,
MACPEAK & SEAS, PLLC
Attorneys for Applicant

By: Peter A. McKen Reg. No. 38,551
Darryl Mexic
Registration No. 23,063

DM/plr

日 本 国 特 許
PATENT OFFICE
JAPANESE GOVERNMENT

JCE008 U.S. PTO
09/750357
12/29/00

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されて
いる事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed
with this Office.

出 願 年 月 日

Date of Application:

2000年 2月29日

出 願 番 号

Application Number:

特願2000-053678

出 願 人

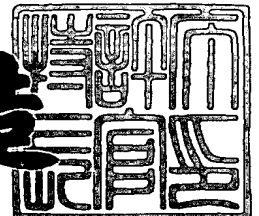
Applicant(s):

株式会社堀場製作所

2000年10月27日

特許庁長官
Commissioner,
Patent Office

及 川 耕 造



出証番号 出証特2000-3088964

【書類名】 特許願

【整理番号】 162X118

【あて先】 特許庁長官殿

【発明者】

 【住所又は居所】 京都府京都市南区吉祥院宮の東町 2 番地 株式会社堀場
 製作所内

 【氏名】 富田 勝彦

【特許出願人】

 【識別番号】 000155023

 【氏名又は名称】 株式会社堀場製作所

【代理人】

 【識別番号】 100074273

 【弁理士】

 【氏名又は名称】 藤本 英夫

 【電話番号】 06-6352-5169

【手数料の表示】

 【予納台帳番号】 017798

 【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

 【物件名】 明細書 1

 【物件名】 図面 1

 【物件名】 要約書 1

 【包括委任状番号】 9706521

【ブルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 分子認識型化学CCDデバイス

【特許請求の範囲】

【請求項1】 化学的な量の大きさに対応して深さを変化するように構成されたポテンシャル井戸を複数個二次元的に配置し、これらのポテンシャル井戸に電荷を注入して、前記化学的な量をこのポテンシャル井戸の大きさに応じた電荷に変換するように構成された化学CCDのセンサ面上に分子認識層を形成したことを特徴とする分子認識型化学CCDデバイス。

【請求項2】 分子認識層が分子インプリンティング法によって形成されている請求項1に記載の分子認識型化学CCDデバイス。

【請求項3】 分子認識層が測定したいDNAと相補的な関係にあるDNAからなる請求項1に記載の分子認識型化学CCDデバイス。

【請求項4】 測定対象物質を含む溶液を泳動用ゲル素材に混入したゲルを、分子認識層の上面に設け、前記ゲルに直流電圧を印加し、ゲルにおける電気泳動後の測定対象物質を測定するようにした請求項1～3のいずれかに記載の分子認識型化学CCDデバイス。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

この発明は、超微量の化学物質を分子レベルで超高感度に測定することができる分子認識型化学CCDデバイスに関する。

【0002】

【従来の技術およびその問題点】

近年、ダイオキシンや環境ホルモンなどの環境汚染物質や、DNAなどのタンパク質をppb、pptのレベルで測定することが求められている。ダイオキシンや環境ホルモンなど環境汚染物質の測定は、その測定対象物質が超微量であるため、超高感度分析が要求される。

【0003】

そして、ダイオキシンや環境ホルモンなどを超微量測定する手法として、SA

W（表面弾性波）デバイス方式や表面プラズモン方式が研究されている。前者の方式は、表面弾性波デバイス上に測定対象物を接触させ、共振周波数のずれで測定する非常に汎用性の高い方式であり、0.1 Hzの周波数のずれで、1 ng（ナノグラム）、すなわち、1 ppbオーダーの分析を行うことができると言われている。また、後者の方式は、光学材料の内部から光を透過させ、外部への光浸透を利用した手法である。いずれの方式も高感度で測定できるが、デバイスを動作させる計測システム全体として見ると、電子回路や光学系など高価の装置を必要とする。

【0004】

また、DNAの測定は、例えば、次のようにして行われている。すなわち、スライドガラスの表面に10 mm角程度の区画を形成し、その一つの区画にそれぞれ異なったプローブDNAを含む $10 \mu\text{m}^2$ の数百～数十万の固定領域を二次元的に配置する。一つの区画がDNAチップとなり、その大きさは 10cm^2 である。そして、予め蛍光物質で標識処理を施したターゲットDNAを含む溶液にチップ表面を浸漬・洗浄して、プローブDNAと相補的なターゲットDNAをハイブリダイズ（対合）して表面に残す。このハイブリダイズされたDNAチップ表面は、蛍光画像として測定できる状態となり、蛍光レーザ顕微鏡とCCDカメラを用いて測定し、コンピュータで自動的に制御し、データ処理を行っている。なお、発光スポット位置によりどの遺伝子に対応するか、予めコンピュータに登録しておき、微弱蛍光強度検出には、1～10 μm の解像度をもつ緑と赤の異なる発色をする蛍光物質を標識断片作成時に使用して、同一DNAチップにおいて、緑色や赤色信号、あるいは、二重発光時の黄色信号などハイブリダイゼーション・プロファイルの比較を行えるようになるソフトウェアもある。

【0005】

しかしながら、上記従来のDNAの測定方法は、蛍光法によるものであり、測定対象物質であるDNAを直接測定しているわけではないので、その測定精度が基本的には変換率に依存しているといった問題があるとともに、高価で大がかりな光学系を用いるところから、装置全体が高価かつ大型化するという問題がある。

【0006】

ところで、測定対象を選択的かつ簡単に測定するには、イオン選択性電極のように官能物質の電位変化を捉える方式が最も有効であるが、測定対象物質をダイレクトかつ選択的に測定する方式として、鑄型重合法（分子インプリンティング法）がある。この方式は、高分子樹脂（ホスト）と測定対象物質（ゲスト）とを錯形成し、重合させた後、ゲストを除去して、ホストにゲスト分子が存在していた箇所に空洞が生じた型を作り、その型に合致する分子だけを取り出す方法で、鑄型重合法とも称されている。

【0007】

また、前記鑄型重合法を発展させた手法として、界面鑄型重合法という手法もある。この界面鑄型重合法は、水層と油層が共存する不均一系の油水界面で鑄型を形成させる方式であり、ゲスト分子との反応が内部に及ばず、界面に限られるため、物質移動が迅速であり、前記通常の鑄型重合法に比べて応答速度が早いといった利点がある。

【0008】

ところで、電気化学的方法は、環境汚染分子と接触し、その変化を直接信号として取り出すことができ、半導体センサとして多数の方式が開発されている。環境汚染分子濃度をモニタリングし、リモートセンシングを行うには、微生物の遺伝子操作技術や、有用機能材料の開発だけでは解決できない。例えば、リモートセンシングは、電子デバイスの現場設置を前提としているし、リアルタイム計測には、複数のセンシングが必要になる。

【0009】

また、一つのセンサの超高感度化よりも二次元センシングの方が結果的には新しい知見を得る可能性が大きい。単純計算で言っても、 64×64 、 128×128 、 256×256 の二次元センシングでは、4096、16384、65536の面配置センサがセンサに対応した位置情報を含む二次元画像信号を得ることができる。

【0010】

さらに、最近の分子、細胞のバイオイメージングの計測技術の発展は目ざまし

いものがあり、デバイス側としては、環境汚染物質とセンサ界面に生ずる電気化学的二重層表面電荷をCCDで転送するデバイス（化学CCD）は、今後、二次元化学画像計測のリアルタイム化を可能にする技術と考えられる。この化学CCDについて、本願出願人は、平成9年5月29日付けで、「物理現象または化学現象の測定方法および装置」として、特許出願しているところである〔特願平9-157716号（特開平10-332423号）〕。この特許出願に係る化学CCDの構成および動作原理について、図7～図9を参照しながら説明する。

【0011】

図7において、1は化学CCDで、次のように構成されている。すなわち、2は例えばp型Si（シリコン）よりなる半導体基板で、厚さ500 μ m程度である。この半導体基板2には、チャンネルストッパー3、電荷供給部4、電荷注入調節部5、電荷変換部としてのセンシング部6、障壁部7、電荷転送部8、フローティングディフュージョン9、リセットゲート10、リセットドレイン11、MOS構造の出力トランジスタ12が形成されている。

【0012】

そして、電荷供給部4、電荷注入調節部5、センシング部6および障壁部7の各部材によってセンサ部13が形成されており、センシング部6は、後に詳しく説明するように、化学的な量の大きさに対応して深さを変化するように構成されたポテンシャル井戸からなる。また、フローティングディフュージョン9、リセットゲート10、リセットドレイン11および出力トランジスタ12の各部材によって出力部14が形成されている。

【0013】

そして、前記センサ部13を、図8に示すように、二次元的に配置してアレイ化することにより、複数点の情報を同時に取り込み、電荷転送部8および出力部13によって、複数点の信号を秩序よく処理することができる。この図に示すように、前記化学CCD1の上面は、化学現象、例えばpHを電荷に変換する複数のセンサ部13と、センサ部13において変換された電荷を矢印方向に転送する電荷転送部8と、転送されてきた電荷を出力信号に変換する出力部14とからなり、電荷転送部8は、水平CCD8Hと、垂直CCD8Vとからなる。

【 0 0 1 4 】

次に、上記化学 C C D 1 の測定原理について、図 9 に示す電位図を参照しながら説明すると、測定に際しては、電荷供給部 4、障壁部 7 およびリセットゲート 1 0 にパルス電圧を印加する一方、フローティングディフュージョン 9 を除く他の電極に直流電圧を印加する。

【 0 0 1 5 】

ところで、通常、p 型半導体を用いた M O S 構造においては、金属電極に正の電圧を加えることによって、その電圧に応じて絶縁膜と半導体の界面に空乏層が形成されることが知られている。そこで、この現象を用いて、図 9 に示すように、半導体－絶縁膜界面近傍での電位状態を作るのである。

【 0 0 1 6 】

状態 1 においては、図 9 (A) に示すように、電荷供給部 4 の電位は高く（矢印方向が高い）設定されており、センシング部 6 には電荷 1 5 は注入されていない。

【 0 0 1 7 】

状態 2 においては、図 9 (B) に示すように、電荷供給部 4 の電位を下げることによって、センシング部 6 に電荷 1 5 を注入する。

【 0 0 1 8 】

状態 3 においては、図 9 (C) に示すように、電荷供給部 4 の電位を上げることによって、電荷注入調節部 5 によってすりきられた電荷 1 5 a がセンシング部 6 に蓄積される。

【 0 0 1 9 】

状態 4 においては、図 9 (D) に示すように、障壁部 7 の電位を上げることによって、センシング部 6 に蓄積された電荷 1 5 a をフローティングディフュージョン 9 に転送する。

【 0 0 2 0 】

状態 5 においては、図 9 (E) に示すように、センシング部 6 の電荷 1 5 a が全てフローティングディフュージョン 9 に転送されてから障壁部 7 を閉じ、電荷の流入を止める。この段階で、フローティングディフュージョン 9 の電位は転送

されてきた電荷 1 5 a の量で決まるので、この電位を MOS 構造の出力トランジスタ 1 2 のゲート部に入力し、この出力トランジスタ 1 2 のドレイン電流を、例えばソースフォロア回路で測定し、この出力をデータ処理機能や画像処理機能を備えた信号処理装置、例えばコンピュータ（図示していない）に入力するのである。

【 0 0 2 1 】

状態 6 においては、図 9（F）に示すように、フローティングディフュージョン 9 の電位を読み取った後、リセットゲート 1 0 をオンし、リセットドレイン 1 1 の電位にリセットする。このリセットにより、再び状態 1 と同じ状態に戻る。つまり、状態 1 ～状態 6 の動作を繰り返すことにより、電荷を外に出力することができる。

【 0 0 2 2 】

上記図 9 に関する説明から理解されるように、この化学 CCD 1 においては、化学的な量の大きさに対応して深さを変化するように構成されたポテンシャル井戸（センシング部 6）を半導体基板 2 に形成し、このポテンシャル井戸 6 に電荷 1 5 を注入して、前記物理的または化学的な量をこのポテンシャル井戸の大きさに応じた電荷に変換するようにして化学現象の大きさを測定するようにしたものであり、この化学 CCD 1 によれば、異なる複数の位置における化学現象を同時に測定することができる。そして、化学的な量を電荷に変換しているので、化学的な現象の一次元分布または二次元分布を容易に画像化することができる。

【 0 0 2 3 】

この発明は、上述の事柄に留意してなされたもので、その目的は、超微量の化学物質を分子レベルで超高感度で測定することができる新規で有用な分子認識型化学 CCD デバイスを提供することである。

【 0 0 2 4 】

【課題を解決するための手段】

上記目的を達成するため、この発明の分子認識型化学 CCD デバイスは、化学的な量の大きさに対応して深さを変化するように構成されたポテンシャル井戸を複数個二次元的に配置し、これらのポテンシャル井戸に電荷を注入して、前記化

学的な量をこのポテンシャル井戸の大きさに応じた電荷に変換するように構成された化学CCDのセンサ面上に分子認識層を形成したことを特徴としている。

【0025】

例えば、前記分子認識層が分子インプリンティング法によって形成されている場合、ダイオキシンや環境ホルモンといった環境汚染物質を始めとする各種の化学物質の濃度を分子レベルで高感度に測定することができる。そして、前記分子認識層として、異なる種類の化学物質をそれぞれ個別に認識できるように構成しておけば、複数の異なる化学物質を同時に検出することができる。

【0026】

また、請求項3に記載の発明のように、分子認識層を、測定したいDNAと相補的な関係にあるDNAによって構成することにより、測定したいDNAを高感度で検出することができる。

【0027】

そして、請求項4に記載の発明のように、測定対象物質を含む溶液を泳動用ゲル素材に混入したゲルを、分子認識層の上面に設け、前記ゲルに直流電圧を印加し、ゲルにおける電気泳動後の測定対象物質を測定するようにした場合、測定対象物質を分離した状態で測定することができる。

【0028】

【発明の実施の形態】

この発明の実施の形態を、図面を参照しながら説明する。図1～4は、この発明の第1の実施の形態を示す。この実施の形態における分子認識型化学CCDデバイス20は、上記説明した化学CCD1のセンサ面6aの上部に、図1に示すように、分子認識層21を形成したものである。この分子認識層21は、例えば、上記説明した分子インプリンティング法によって形成されている。

【0029】

前記分子インプリンティング法は、図3に示すように、高分子樹脂をホストとし、測定対象物質、例えばダイオキシンをゲストとすると、これらによって錯形成し、重合させた後、ゲストであるダイオキシンを洗い出しによって除去することにより、ホストにゲスト分子が存在していた箇所に空洞22が生じた型23

を作り、その型 23 に合致する分子だけを取り出せるようにしたものである。そして、分子認識層 21 には、ダイオキシンだけでなく、環境ホルモンなど他の化学物質なども同時に測定できるようにしてある。

【0030】

すなわち、図 2 に模式的に示すように、化学 CCD 1 のセンサ面 6a 上に形成される分子認識層 21 には、分子インプリンティング法によって形成された電気的空洞よりなる複数の分子認識部 22 が二次元的に複数個配列されている。なお、この分子認識層 21 は、例えば、シリコンウェーハのプロセスで製作され、導電性高分子であるピロールよりなる。

【0031】

図 4 は、前記分子認識型化学 CCD デバイス 20 の信号を処理し、測定結果を表示したりする構成の一例を示すもので、この図において、24 は抵抗 25 と出力端子 26 とグラウンド端子 27 とからなるソースフォロワ回路で、この回路 24 における出力信号は、抵抗 25 の大きさによって大きく異なるが、出力電流に対して直線的な電圧信号を得ることができる。そして、28 はデータ処理機能および画像処理機能を備えたコンピュータで、カラー表示可能なディスプレイ 28a を備えており、処理結果や分布状況を適宜表示することができる。

【0032】

上記構成の分子認識型化学 CCD デバイス 20 によれば、例えば、試料としての溶液をごく微量〔例えば 1 nL (ナノリットル)〕分子認識層 21 に滴下すると、溶液中に含まれる化学物質の分子が、その分子に対応するように形成された分子認識部 22 によって認識され、分子認識部 22 からは化学物質の濃度に応じた電荷が出力され、この電荷が化学 CCD 1 を経て取り出される。したがって、溶液中のダイオキシンや環境ホルモンなどの環境汚染物質が ppb、ppt のレベルで同時に測定される。

【0033】

上述したように、この発明の分子認識型化学 CCD デバイス 20 は、電極における表面電位計測法に則っているので、分子認識層 21 を適宜形成することにより、全ての荷電物質を測定することができる。

【 0 0 3 4 】

なお、分子認識層 2 1 における複数の分子認識部 2 2 は、全てのものがそれぞれ異なる化学物質を検出できるようにしてあってもよいが、単一の化学物質のみを検出できるようにし、その二次元分布を測定できるようにしてもよい。

【 0 0 3 5 】

ところで、DNAを始めとするタンパク質は、上記第 1 の実施の形態における分子認識型化学 CCD デバイス 2 0 を用いることによっても測定することができるが、特に、DNA については、次のように構成された分子認識型化学 CCD デバイスを用いることにより簡単に測定できる。以下、これを第 2 の実施の形態として説明する。

【 0 0 3 6 】

図 5 は、第 2 の実施の形態に係る分子認識型化学 CCD デバイス 2 0 A のセンサ部の構成を模式的に示すもので、この図において、3 1 は化学 CCD 1 のセンサ面 6 a の上部に形成される分子認識層で、測定対象である DNA と相補的な関係にある DNA を二次元的に配列したもので、図中の符号 3 2 は相補的 DNA を示している。

【 0 0 3 7 】

上記構成の分子認識型化学 CCD デバイス 2 0 A においては、分子認識層 3 1 上に微量の液体試料を載せることにより、この試料中に含まれる DNA を検出することができる。

【 0 0 3 8 】

図 6 は、この発明の第 3 の実施の形態を示すもので、この実施の形態においては、同図 (A) に示すように、測定対象物質を含む溶液を、アクリルアミドや寒天などの泳動用ゲル材料に測定対象物質を混ぜて、例えばシート状のゲル 4 1 を形成し、このゲル 4 1 を、例えば図 1 に示した分子認識型化学 CCD デバイス 2 0 の分子認識層 2 1 の上面に設け、同図 (B) に示すように、ゲル 4 1 の直交する二つの方向 (X, Y 方向) にそれぞれ電極対 4 2, 4 3 を設け、これらの電極対 4 2, 4 3 にそれぞれ直流電圧を印加してゲル 4 1 において、前記測定対象物質を電気泳動させるようにしている。このようにした場合、対象物質を分離した

状態で測定することができる。なお、44 X, 44 Yは直流電源である。

【0039】

なお、第3の実施の形態において、分子認識層としては、図5に示した構成のものを用いてもよい。

【0040】

【発明の効果】

この発明の分子認識型化学CCDデバイスによれば、超微量の化学物質を分子レベルで超高感度で測定することができる。そして、分子認識層として、異なる種類の化学物質をそれぞれ個別に認識できるように構成しておけば、複数の異なる化学物質を同時に検出することができる。

【図面の簡単な説明】

【図1】

この発明の分子認識型化学CCDデバイスの要部の構造を概略的に示す図である。

【図2】

前記分子認識型化学CCDデバイスにおける分子認識層の一例を模式的に示す図で、(A)は断面図、(B)は平面図である。

【図3】

分子認識層を形成するための分子インプリンティング法を概略的に説明するための図である。

【図4】

分子認識型化学CCDデバイスの全体構成を概略的に示す図である。

【図5】

分子認識層の他の例を模式的に示すもので、(A)は断面図、(B)は平面図である。

【図6】

この発明の他の実施の形態を示す図である。

【図7】

この発明で用いる化学CCDの構造を概略的に示す図である。

【図 8】

前記化学 CCD のセンサ部の平面構成を概略的に示す図である。

【図 9】

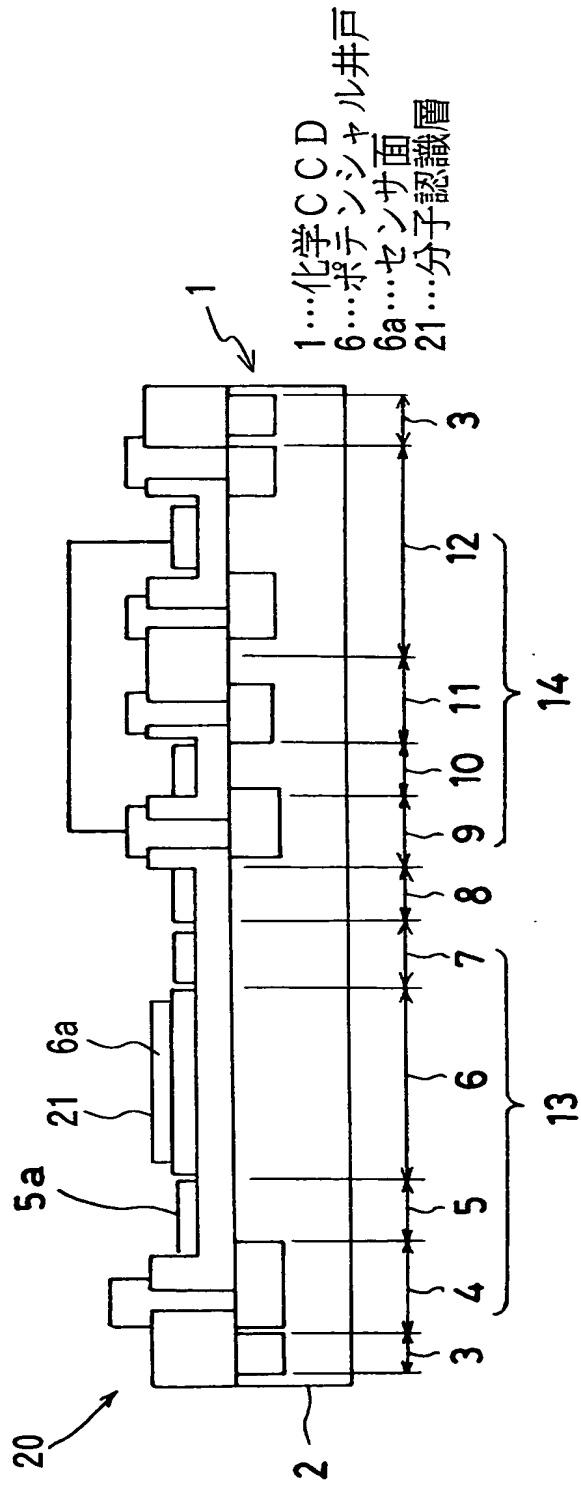
前記 CCD の測定原理を説明するための図である。

【符号の説明】

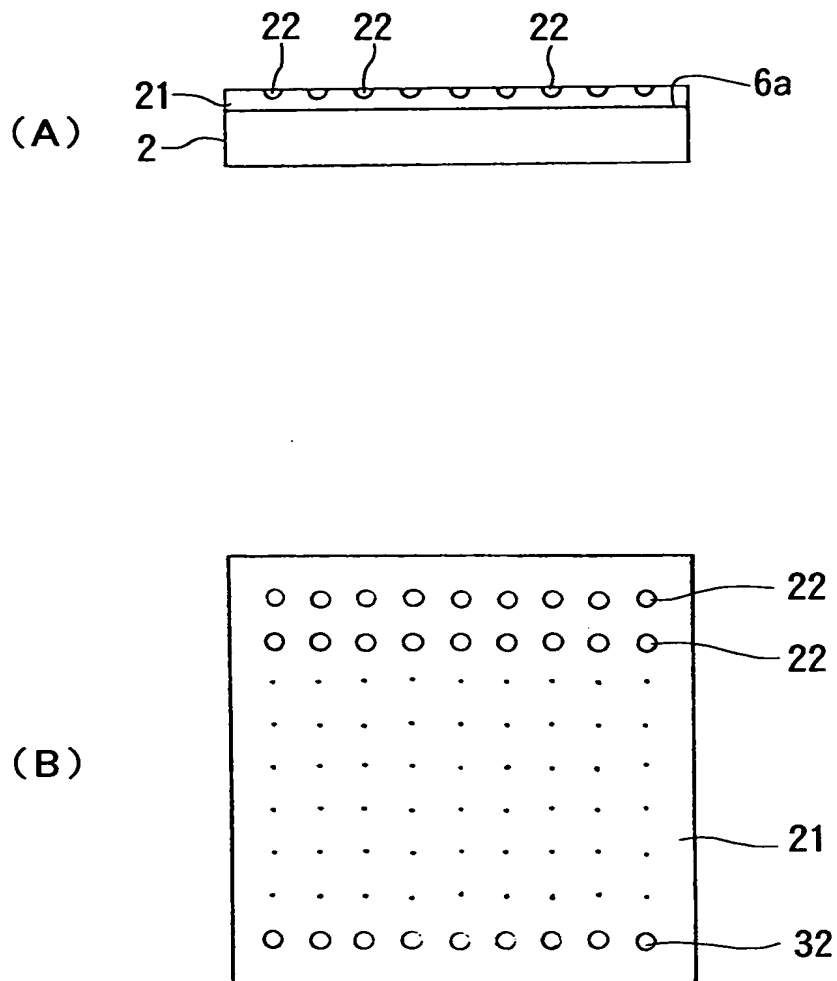
1 …化学 CCD、6 …ポテンシャル井戸、6 a …センサ面、2 1, 3 1 …分子認識層、3 2 …相補的 DNA、4 1 …ゲル。

【書類名】 図面

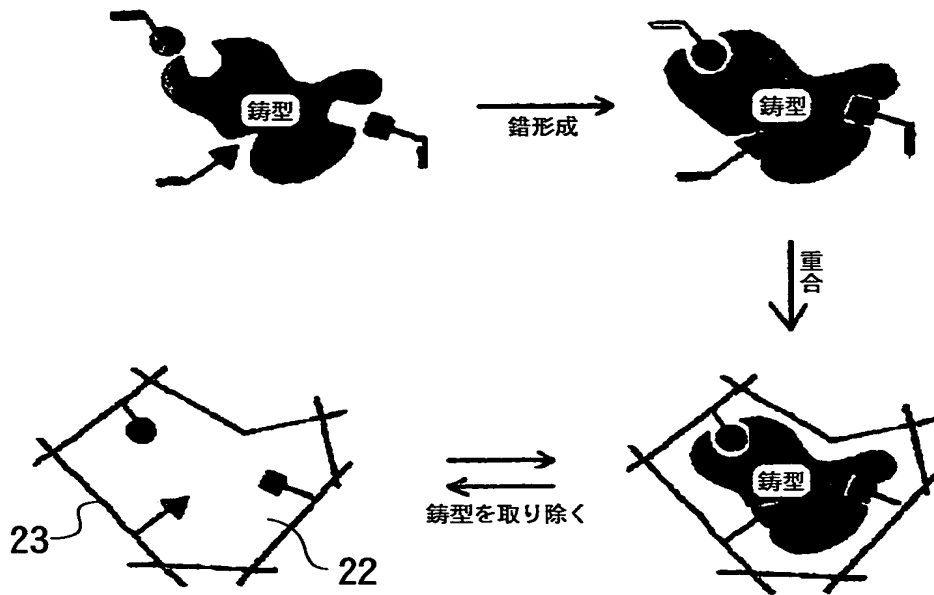
【図 1】



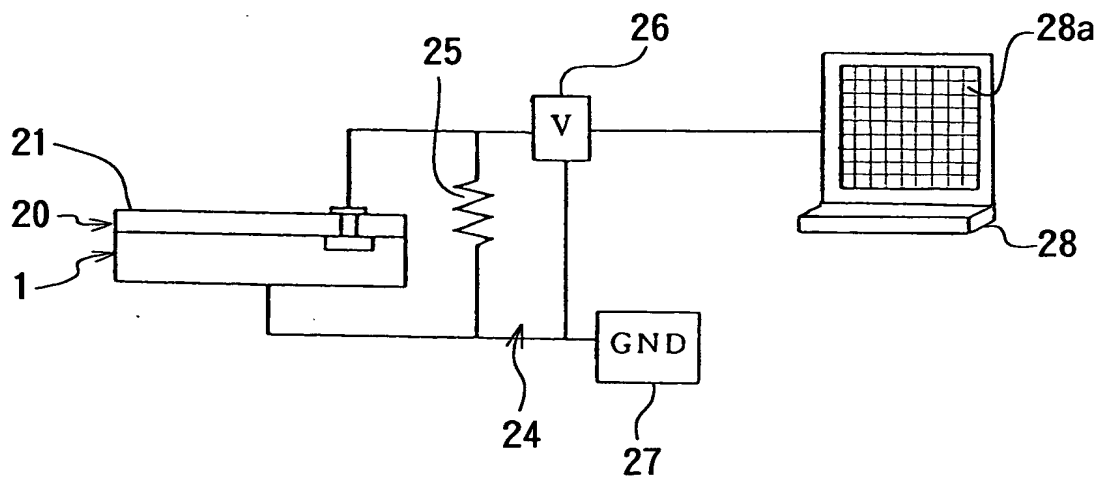
【図 2】



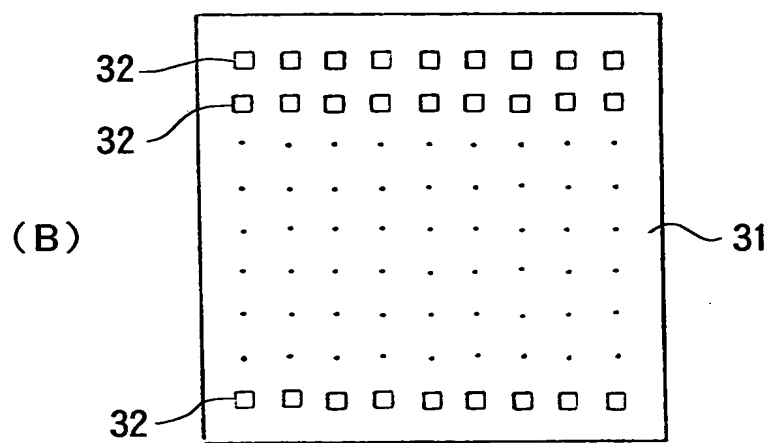
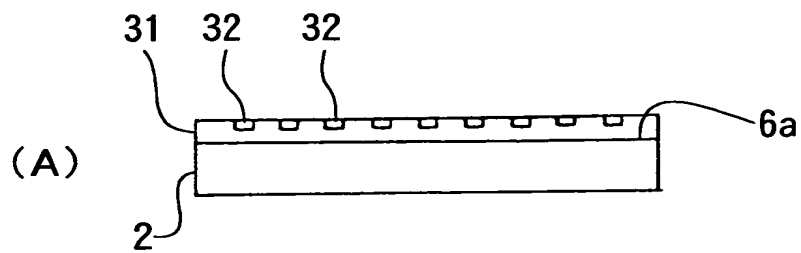
【図 3】



【図 4】

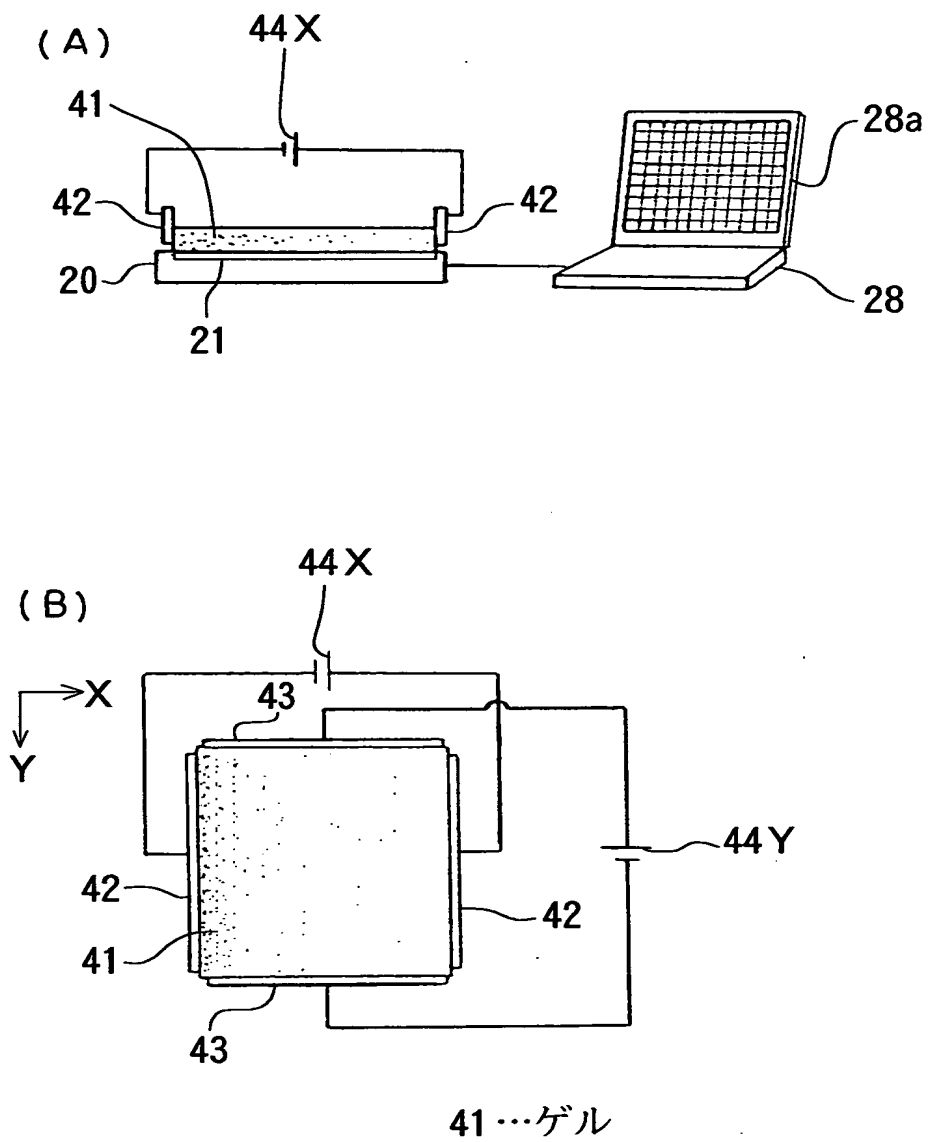


【圖 5】

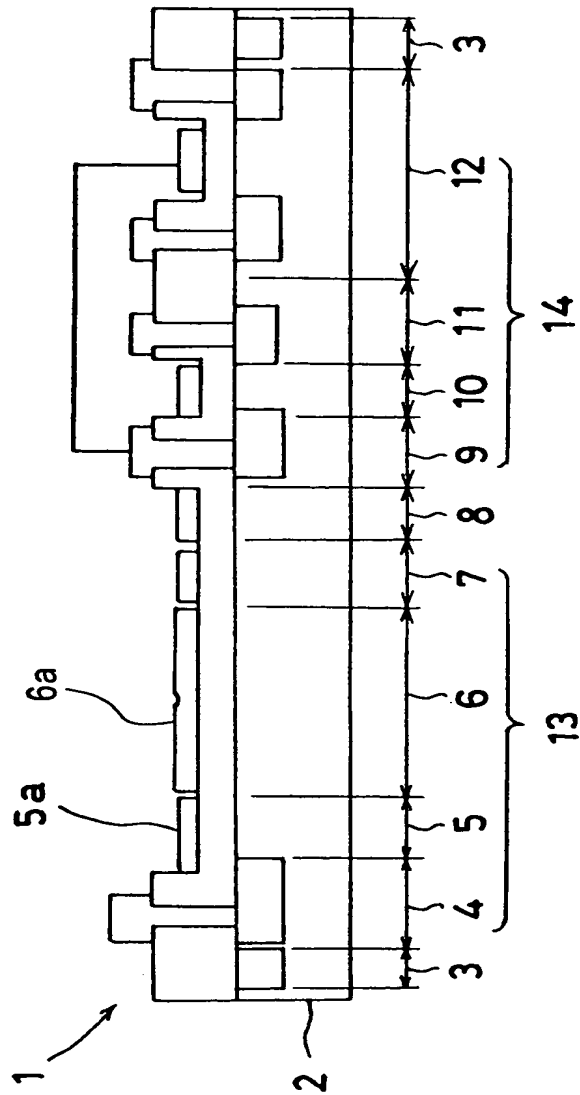


31 ... 分子認識層
32 ... 相補的 DNA

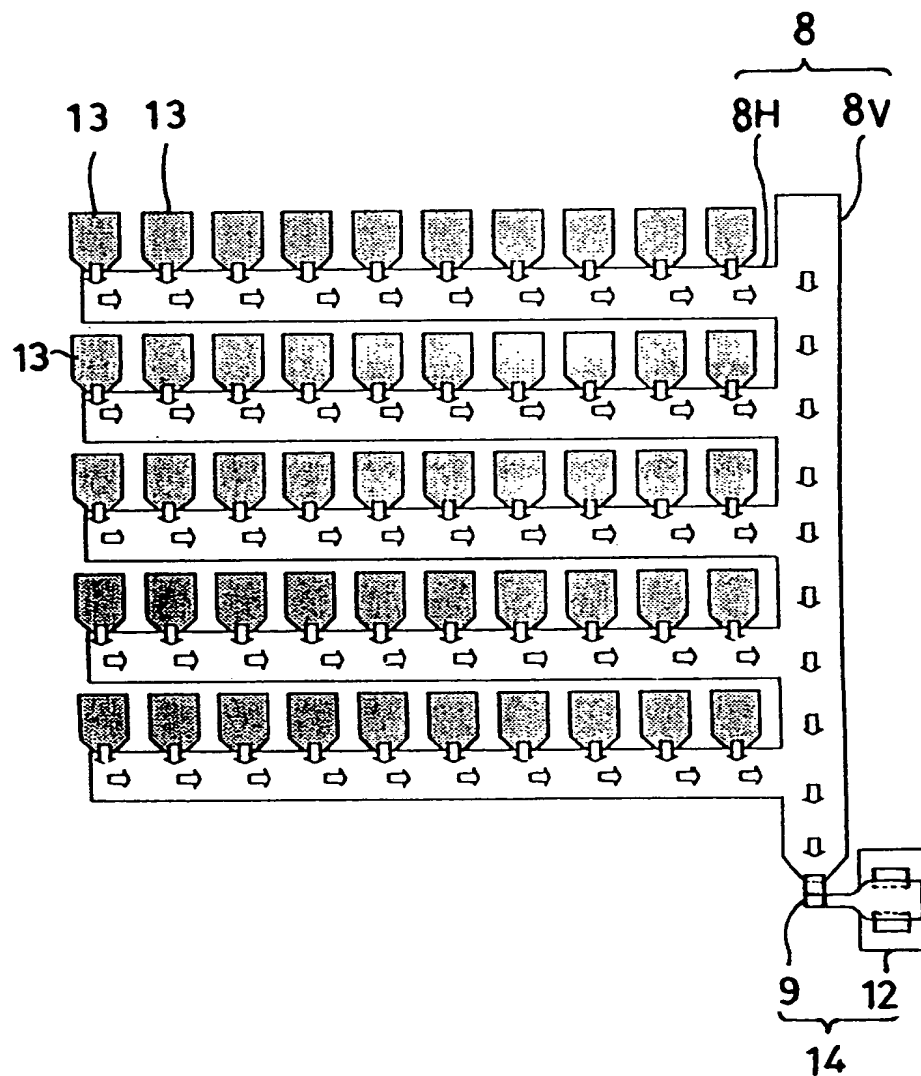
【図 6】



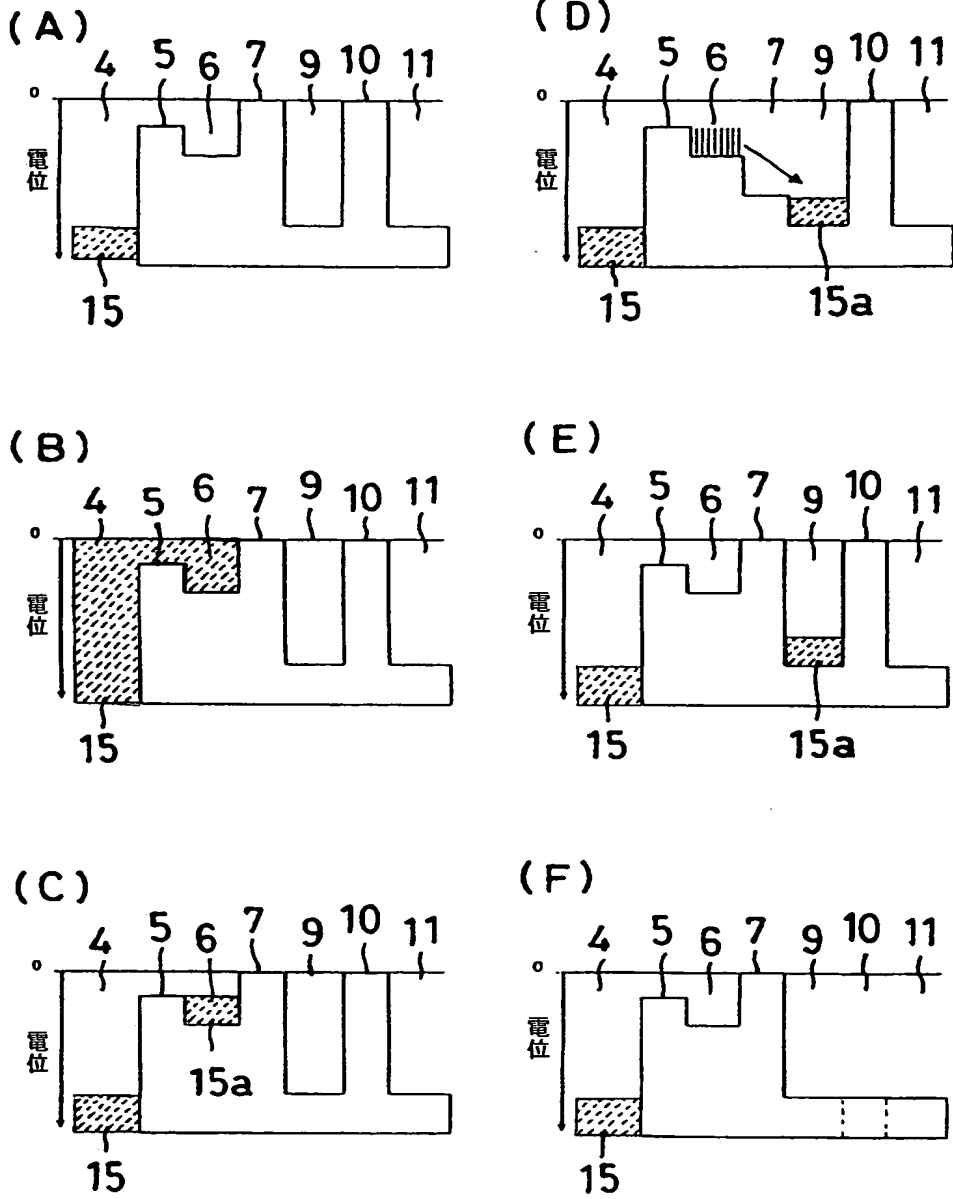
【図7】



【図 8】



【図9】



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 超微量の化学物質を分子レベルで超高感度で測定することができる新規で有用な分子認識型化学CCDデバイスを提供すること。

【解決手段】 化学的な量の大きさに対応して深さを変化するように構成されたポテンシャル井戸6を複数個二次元的に配置し、これらのポテンシャル井戸6に電荷を注入して、前記化学的な量をこのポテンシャル井戸の大きさに応じた電荷に変換するように構成された化学CCD1のセンサ面6a上に分子認識層21を形成した。

【選択図】 図1

特 2 0 0 0 - 0 5 3 6 7 8

認 定 ・ 付 加 情 報

特許出願の番号	特願 2 0 0 0 - 0 5 3 6 7 8
受付番号	5 0 0 0 0 2 3 3 8 9 7
書類名	特許願
担当官	第三担当上席 0 0 9 2
作成日	平成 1 2 年 3 月 1 日

< 認定情報・付加情報 >

【提出日】	平成12年 2月29日
-------	-------------

次頁無

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [0 0 0 1 5 5 0 2 3]

1. 変更年月日 1 9 9 0 年 9 月 3 日

[変更理由] 新規登録

住 所 京都府京都市南区吉祥院宮の東町 2 番地

氏 名 株式会社堀場製作所